

Original document

APPARATUS AND METHOD FOR STIRRING SOLUTION

Publication number: JP2004144521

Publication date: 2004-05-20

Inventor: OKANO KAZUNOBU; HARADA KUNIO; OBARA
MASANOBU; NODA HIDEYUKI

Applicant: HITACHI LTD

Classification:


- international: *G01N33/53; B01F11/00; C12M1/00; C12M1/02;
C12Q1/68; G01N1/36; G01N33/543; G01N37/00;
B01F13/00; G01N33/53; B01F11/00; C12M1/00;
C12M1/02; C12Q1/68; G01N1/36; G01N33/543;
G01N37/00; B01F13/00; (IPC1-7): G01N1/36;
C12M1/00; C12M1/02; C12Q1/68; G01N33/53;
G01N37/00*

- european:

Application number: JP20020307535 20021022

Priority number(s): JP20020307535 20021022

Also published as:

 US2004110278 (A)

View INPADOC patent family

Abstract of JP2004144521

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method and an apparatus for stirring solution, which carry out uniform reaction on an array substrate and improve its reactive efficiency.

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-144521

(P2004-144521A)

(43) 公開日 平成16年5月20日(2004.5.20)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
GO1N 1/38	GO1N 1/28	2G052
C12M 1/00	C12M 1/00	4B029
C12M 1/02	C12M 1/02	4B063
C12Q 1/68	C12Q 1/68	
GO1N 33/53	GO1N 33/53	M

審査請求 有 請求項の数 16 O L (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-307535 (P2002-307535)	(71) 出願人	000005108
(22) 出願日	平成14年10月22日 (2002.10.22)		株式会社日立製作所
			東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地
(出願人による申告) 国等の委託研究の成果に係る特許出願 (平成14年度新エネルギー・産業技術総合開発機構 (再) 委託研究、産業活力再生特別措置法第30条の運用を受けるもの)		(74) 代理人	100091096
			弁理士 平木 祐輔
		(72) 発明者	岡野 和宣
			東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地
			株式会社日立製作所中央研究所内
		(72) 発明者	原田 邦男
			東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地
			株式会社日立製作所中央研究所内
		(72) 発明者	小原 賢信
			東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地
			株式会社日立製作所中央研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 溶液攪拌装置、溶液攪拌方法

(57) 【要約】

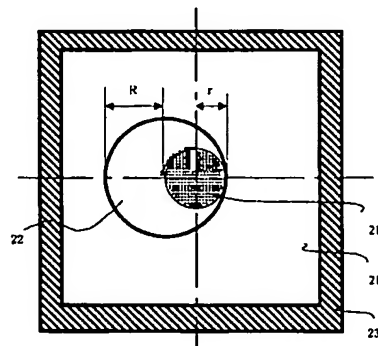
【課題】アレイ基板上の反応を均一に行わせ、かつ反応効率を高める溶液 方法及び装置を提供する。

【解決手段】上記目的は、試料溶液を介して設置された板状部材を、フローが固定されたアレイ基板及びアレイ基板を設置した台状部材に対して相対的に動かす装置及び方法により達成される。溶液は、アレイ基板上の何れの箇所においても流量がほぼ同一になるよう される。

【効果】試料溶液を板状部材を用いて動かし、アレイ表面上に均一かつ効率よく供給する。これによりアレイ基板上で均一に反応が進むと共に、高い反応効率を得られる。

【選択図】 図7

図7



【特許請求の範囲】

【請求項1】

フローが固定された基板を設置する台状部材と、
前記基板の上の試料溶液で満たされるべき空間を形成するよう設けられた板状部材と
前記基板上に前記試料溶液を供給する試料供給口と、
前記板状部材と前記台状部材との間の相対運動をおこなう動作手段と
を有する溶液 装置。

【請求項2】

前記動作手段は、前記板状部材に1方向の往復移動を行わせる
ことを特徴とする請求項1に記載の溶液 装置。

10

【請求項3】

前記板状部材の往復速度は0.9～30秒/1サイクルである
ことを特徴とする請求項2に記載の溶液 装置。

【請求項4】

前記板状部材の前記往復移動方向の長さは、
前記基板の前記フローが固定された領域についての前記往復移動方向の長さの2倍以上
である
ことを特徴とする請求項2に記載の溶液 装置。

【請求項5】

前記動作手段は、前記板状部材を回転させる
ことを特徴とする請求項1に記載の溶液 装置。

20

【請求項6】

前記板状部材の回転速度は0.9～30秒/1サイクルである
ことを特徴とする請求項5に記載の溶液 装置。

【請求項7】

前記板状部材は円形であり、また
前記基板の前記フローが固定された領域は多角形であって、
前記円形の直径は、前記多角形の対角線の2倍以上であること
を特徴とする請求項5に記載の溶液 装置。

【請求項8】

前記板状部材は円形であり、また
前記基板の前記フローが固定された領域は円形であって、
前記板状部材の直径は、前記基板の前記フローが固定された領域の直径の2倍以上であ
る
ことを特徴とする請求項5に記載の溶液 装置。

30

【請求項9】

前記動作手段は、シャフトと補助部材とから構成され、
前記シャフトと前記補助部材との間、または前記補助部材と前記板状部材との間、又は複
数の前記補助部材を用いる場合に前記補助部材と他の前記補助部材との間の少なくとも1
つの接合部が固定され、
前記シャフトが回転することにより前記板状部材を回転させる
ことを特徴とする請求項5に記載の溶液 装置。

40

【請求項10】

前記台状部材と前記板状部材との間の前記空間の距離は、
50.000～100.000nmである
ことを特徴とする請求項1に記載の溶液 装置。

【請求項11】

前記板状部材の前記試料溶液に接する面は、親水性であることを特徴とする請求項1に記
載の溶液 装置。

【請求項12】

50

前記試料溶液の温度を所定の温度に維持する温度調節機構を有することを特徴とする請求項1に記載の溶液 装置。

【請求項13】

フローブが固定された基板と板状部材との間に試料溶液を導入し、前記板状部材を前記基板を設置した前記台状部材に対し相対的に動かし、前記基板上での前記試料溶液の流量を前記基板上のいずれの点においてもほぼ同一にすることを特徴とする溶液 方法。

【請求項14】

フローブが固定された基板を内部に保持する設置部材と、前記設置部材の内部に試料溶液を供給する試料供給口と、前記設置部材を回転させて前記試料溶液を遠心力により する動作手段とを有する溶液 装置。

10

【請求項15】

前記動作手段は、前記設置部材内部に保持された基板を、前記フローブが固定された面の裏面を前記設置部材の内壁に対面させて押し付ける遠心力を生じさせることを特徴とする請求項14に記載の溶液 装置。

【請求項16】

前記台状部材の回転速度は、200～400rpmであることを特徴とする請求項14に記載の溶液 装置。

20

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、化学反応、特に基板上に固定化されたフローブと相互作用する生体分子の反応を効率よく行うための溶液 装置及び溶液 方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

新薬探索の1手段として、近年、DNAマイクロアレイが注目されている。これは、疾病に関連した遺伝子変異同定のためのDNA塩基配列分析、及び遺伝子発現解析等に広く利用されているものである。ここで用いられるアレイ基板は、その表面に数100から数1000のフローブが配列され、かつ固定されている。DNAマイクロアレイ用のフローブとしては、一般的に正常遺伝子と同じ配列を持つ1本鎖、もしくは2本鎖の合成DNAが用いられている。さらにこのようなアレイ基板を用いる解析方法は、DNAを対象とするばかりでなく、タンパク質などを対象としても用いることができる。いずれの場合にも、アレイ基板上には複数種のフローブが固定され、各フローブと試料のハイブリダイゼーションを行うことにより、サンプル中の核酸やタンパク質の存在有無や、存在量変化の有無が解析できる。

30

【0003】

一般的には、ハイブリダイゼーションは、試料を含むハイブリダイゼーション溶液をフローブが固定されたアレイ基板上に滴下し、ハイブリダイゼーション溶液が気化しないように基板をカバーガラスで覆い、湿気を持たせた容器が密閉されたカセットの中に設置し、かなりの長時間（12時間以上）に渡って一定温度に保つことにより行われる。ハイブリダイゼーションの均一を図るため、また、ハイブリダイゼーション時間を短縮するための方法として、ハイブリダイゼーション溶液を振動させること、もしくは振動と同時にすることが知られている。最近では、メンブレン上のハイブリダイゼーションを行う場合のための回転式装置や、アレイ基板上のハイブリダイゼーションを行う場合のための溶液振動装置が用いられている。

40

【0004】

米国特許公開公報第2001/0046702号には、図14に示す通り、実質的に平らな底面34を持ち、カバー35と、溶液口36と、アレイと底面表面との空間を調節する

50

ための空間調節手段 37 とアレイ設置部 38 を備えたアレイ上のハイブリダイゼーション装置が記載されている。この装置では、アレイはチャンパー 39 内の空間調整手段上に設置され、アレイと底面表面との空間は空間調節手段により調節されている。このように調節されたアレイは、チャンパーに導入される生体試料に接触することとなる。このチャンパー内において試料溶液は されるが、試料溶液を するための手段としては、超音波手段、還流型ポンプ、ローラー、空間調節手段、ソレノイドが挙げられている。

【0005】

試料溶液 の例としてはさらに、米国特許 6, 186, 659 号に記載されるように、基板を重ね合わせ、基板間の空間に溶液を導入し、この溶液内に気泡を生じさせてかつ気泡を移動させる機構により、溶液を する方法もある。

10

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

試料を含むハイブリダイゼーション溶液をフローが固定されたアレイ基板上に滴下する従来の方法では、ハイブリダイゼーションの反応時間として 12 時間程度の長い時間が必要となる上、反応効率も低い。

【0007】

また、上述の、米国特許公開公報 2001/0046702 号、及び米国特許 6, 186, 659 号の溶液 技術では、溶液が されることの記載はあるが、 によるアレイ基板上の溶液の流れが不均一となり、アレイ基板上の反応が不均一となって十分な反応効率が得られない上、フローの位置によって反応効率が変化してしまう。

20

【0008】

本発明の目的は、アレイ基板上の反応を均一に行わせ、かつ、反応効率を高める溶液方法及び装置を提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段】

上記目的は板状部材を、試料溶液を介して、フローが固定されたアレイ基板を設置する台状部材に対して相対的に動かすことによって達成される。即ち、溶液 装置としては、アレイ基板を設置する台状部材と、試料溶液を保持する空間を介して設けられた板状部材と、アレイ基板上に試料溶液を供給する手段と、この板状部材を台状部材に対し相対的に動かす動作手段とを設けた構成とする。また、溶液 方法としては、アレイと板状部材との間に試料溶液を導入し、アレイ基板上の何れの箇所においても、試料溶液の流量がほぼ同一になるように、板状部材をアレイ基板を設置した台状部材に対して相対的に動かすようにした構成とする。

30

【0010】

このように、試料溶液を板状部材を用いて動かすことにより、試料溶液が動くので、試料溶液がアレイ基板表面上に均一に、かつ効率よく供給される。従って、アレイ基板上で均一に反応が進むと共に、高い反応効率が得られる。

【0011】

具体的には、板状部材を相対的に動かす動作としては、台状部材と板状部材の何れかを固定して他方を動作させてもよいし、何れをも動作させてもよい。さらに、この動作は、回転、もしくは一方向に往復動作させてもよい。また、アレイ基板上のフローが固定された領域が円形または多角形の時に、板状部材が円形の際は直径をフローが固定された領域円形の直径の 2 倍以上または多角形の対角線の 2 倍以上とし、また板状部材が四角形で往復運動を行う際は往復運動の方向の長さをフローが固定された領域円形の直径の 2 倍以上または多角形の対角線の 2 倍以上とする。これによって、板状部材を台状部材に対し相対的に動かす際には、アレイ基板上の何れの箇所でも試料溶液の流量がほぼ同一となり、反応の均一性が極めて向上する。

40

【0012】

さらに上記目的は、アレイ基板を内部に保持した設置部材の内部に試料溶液を導入し、設置部材を回転させて遠心力を生じさせることによって達成される。即ち、溶液 装置

50

としては、アレイ基板を内壁上に保持する設置部材と、設置部材内部に試料溶液を供給する手段と、設置部材を回転させる動作手段とを設けた構成とする。

【0013】

設置部材の回転で生じる遠心力によって、アレイ基板がフローが固定されている面の裏面で設置部材の内壁に直面して該内壁に押し付けられ、かつ試料溶液が該内壁に循環的に供給される。このことにより、試料溶液がアレイ基板表面上に均一に、かつ効率よく供給される。従って、アレイ基板上で均一に反応が進むと共に、高い反応効率が得られる。

【0014】

ここで、フローと試料溶液中の標的物質との関係は、核酸-1本鎖核酸、核酸-2本鎖核酸、抗原-抗体、抗体-抗原、リガンド-受容体、受容体-リガンド、基質-酵素、酵素-基質、ペプチド核酸-核酸、又は核酸-ペプチド核酸の何れでも良い。特に、分子量の小さいDNAやRNAにおいては、効率がハイブリダイゼーションの結果に影響を及ぼすため、上記いずれの構成をとることによっても高い反応効率が得られ、特に効果がある。

【0015】

【発明の実施の形態】

以下は本発明の実施例である。

【0016】

【実施例1】 本実施例は、図7の構成を用いて溶液をさせる場合を示す。ここでは、(1)アレイ基板21を設置する台状部材と、(2)アレイ基板から、試料溶液を保持する空間を介して設けられた板状部材とを用い、板状部材22は台状部材23に対して相対的に回転する。図7に示されるとおり、フロー固定部21'は基板の中心部に位置している。また、図8に示すとおりに、フロー固定部21'には、異なる種類のフロー4が固定されており、溶液中の標的物質5がフロー4と結合する。

【0017】

試料溶液6はアレイ基板1と板状部材2との間の空間へ、試料注入器11により(図3)、もしくは、板状部材2に連結された流路7により注入される(図4)。流路7は、試料溶液の導入路が短くなることにより注入試料溶液量が少なくて済むため、より好ましい。

【0018】

ハイブリダイゼーション等の反応後、アレイ基板1と板状部材2との間の空間に留まっている試料溶液は、吸引器15(図3)により吸引される。

【0019】

板状部材2について、試料溶液と接する面は親水性を有している。具体的には、板状部材は、ガラス、もしくは表面に酸化膜を形成した金属を材料とする。そして試料溶液に接する表面のみについて、親水性を持たせるべく加工を行う。例えば、アミノエチルアミノプロピルトリメトシキシラン水溶液(酢酸触媒を含む)で処理し、30分程度室温で放置し、その後水洗してから110℃程度で1時間ほど空気中で加熱することにより表面にアミノ基を導入する。さらにこの面に無水酢酸(エタノール溶媒)を50℃程度で30分間ほど反応させることにより、表面のアミノ基をカルボキシル基に置換する。このように表面をカルボキシル基で修飾することにより、表面が水中ではマイナスに荷電し、親水性を有すると共に、マイナスに荷電したDNAなどの物質の吸着を防ぐことが出来る。さらに、表面が親水性を有するために、試料溶液は毛細管現象により基板1と板状部材2との間の空間へ導入される。

【0020】

また、板状部材の表面とフロー固定部は実質的に平滑である。しかし、反応の最適化のため、微小な流路を設けたり、高温度維持によって生じる気泡を捕捉する溝を設けてもよい。

【0021】

さらに、アレイ基板から板状部材までの、試料溶液が保持される空間には、板状部材が動くことによって気泡が入り込むことはない。つまり、気泡混入によりハイブリダイゼーシ

10

20

30

40

50

オン等の反応の効率が落ちることはない。

【0022】

板状部材を回転させる手段は図9に示すとおりである。一对の回転シャフト24a、24bは一对の補助小フレート27a、27b各々に固定されている。補助小フレート27a、27b各々はフレート28に繋がる回転軸を有している。回転シャフト24aと補助小フレート27a、及び、回転シャフト24bと補助小フレート27bは各々固定されており、一体として回転する。補助大フレート28は、補助小フレート27a、27bに対して回転可能に連結される一方で、板状部材22には固定されており板状部材22と一体として回転する。さらに、補助大フレート28と板状部材22は一体として、基板に対して相対的に公転する。回転シャフト24a、24bが回転すると、対応する補助小フレート27a、27bが基板に対し相対的に自転し、それに伴って板状部材22を板状部材22の中心の周りにではなく台状部材22の中心（かつアローブ固定部21'の中心）の周りに公転させる。

10

【0023】

図10に回転シャフトが同期して90度ずつ回転したときのアローブ固定部と板状部材の位置関係を透過的な模式図として示したものである。補助大フレート28に固定した板状部材22がアレイ基板21との間に一定の間隔を設けて設置されている。補助小フレート27a、27bは、補助大フレート28に取り付けられた軸29a、29bにはめ込まれており、回転できる構造となっている。補助小フレート27a、27bには各々軸29a、29bが固定されている。補助小フレート27a、27bの回転中心は各々回転シャフト24a、24bの中心であり、この回転中心は、軸29a、29bから図10の33に示される距離だけずれている。このため、補助大フレート28に取り付けられている板状部材22も、図10の33に示されるずれとほぼ同じだけ中心が変心して回転する。この中心のずれは、板状部材22の半径が40mm、アローブ固定部の半径が20mm、補助小フレートが円形でその半径が13mmの際に、10mm程度である。透過的にみると、板状部材22はアローブ固定部21'の全体を覆い、かつアローブ固定部21'の円周枠に接しながら、アローブ固定部21'の回りを回転することになる。

20

【0024】

図11は、アローブ固定部21'に対する板状部材22の回転方向26と、アローブ固定部21'上の点25a、b、c、dでの板状部材22の相対移動ベクトルを示す。図11Aには、時計上の12時の方向への板状部材の相対移動ベクトルが位置25aの0から、位置25b、25c、25d、と順に位置25eにおける最大値へと大きくなることを示している。図11Bには、25a-25eの全ての位置で、相対移動ベクトルが時計上の3時の方向に向いていることを示す。図11Cには、時計上の6時の方向への相対移動ベクトルが位置25eにおける0から25d、25c、25bと順に位置25aにおける最大値へと大きくなることを示す。図11Dには、25a-25eの全ての位置において、移動ベクトルが時計上の9時の方向に向いていることを示す。このような段階を追うことにより、25a-25e各々の位置において、各々の回転サイクルを経た時に板状部材22の相対移動ベクトルの和は全て0となる。これより、板状部材の動きにより生じる溶液に流れについても同様な状況が考えられ、25a-25e各々の位置、ひいてはアローブ固定部上の全ての点において、各々の回転サイクルを経た時に溶液の相対移動ベクトルの和は全て0となる。つまり、アローブ固定部上の全ての点において、1つの回転サイクルを経た時に、そのサイクルでの溶液の流量がほぼ同一となる。

30

40

【0025】

板状部材の回転速度は、0.1秒～1分/1サイクルであるが、より効果的な範囲は0.9～30秒/1サイクルである。

【0026】

本実施例の板状部材とアローブ固定部は様々な形状をとりうるが、(1)台状部材は板状部材の動く範囲よりも十分大きいこと、(2)板状部材の動く範囲がアローブ固定部に対して十分大きいことを条件とする。本発明における実施の例では、板状部材とアローブ固

50

定部は円、正方形（図12）、長方形、六角形（図13）、もしくは他の対称的な形をもつ。例えば、図7に示す実施例1では、フローブ固定部と板状部材（ $R > 2r$ ）は円形であり、基板は長方形である。さらに具体的な大きさとしては、例えば、フローブ固定部と板状部材が共に円形である場合、フローブ固定部の半径 r の直径が2cmの場合には板状部材の直径 R は4cm以上が好ましい。

【0027】

ハイブリダイゼーション等の反応の検出については、例えば、フローブと結合する標的物質を含む反応前の試料に対し、試料中の標的物質に蛍光物質などの標識を付加する処理を行い、反応後に蛍光強度を検出して、標的物質の有無や量を解析する。この検出は、本発明の装置に検出機構を組み込んで行ってもよく、また本実施例のように組み込むことなく本装置による反応後に他の検出器を用いても良い。

10

【0028】

図5に、本実施例による試料溶液を回転した場合と、回転せずに静置した場合との各々の、ハイブリダイゼーション反応速度についての結果例を示す。縦軸は相対蛍光強度、横軸は反応時間（分）である。回転を行った場合には、10分の反応時間で十分な蛍光強度が得られたのに対し、静置した場合は、180分の反応時間でも回転を行う場合の半分程度の蛍光強度に留まった。すなわち、回転を行うと、極めて短時間でハイブリダイゼーション反応が行われることが示された。この実験条件、すなわち緩衝液組成、試料DNAフローブに関してはNucleic Acids Research (2002) 30, No. 16 e87記載のハイブリダイゼーション方法に従った。すなわち、使用した試料DNAはモデルとして5'末端をスルフォローゲミン101（別名Texas Red）で標識した18塩基長の合成オリゴ（5'-TGACGGAGGTTGTGAGGC-3'；配列番号1）を0.1nMの濃度で用いた。フローブ固定部には試料DNAに相補な配列のフローブで5'末端にSH基をやす構造のものが（5'-GCC TCACA ACC TCC GTCA-3'；配列番号2）が固定されている。フローブ固定法はまず、上記文献に従い、ガラス版を3-アミノプロピルトリメトキシシランで処理し表面にアミノ基を導入する。ガラス表面に導入したアミノ基とフローブのSH基の間をN-(11-maleimidoundecanoxyl) succinimideで架橋した。

20

【0029】

図6に、本実施例における基板と板状部材との間の空間距離と反応効率の関係についての結果例を示す。縦軸は相対蛍光強度、横軸は基板と板状部材との間の空間の距離（ μm ）である。空間の距離が小さくなるにつれて、すなわち、基板と板状部材が近づくにつれて、反応効率が指数関数的に大きくなることが示された。より高い反応効率を得られる空間距離は50～100 μm である。例えば、標的が10塩基からなる2本鎖DNAの場合、その長さは24nmであり、各々のフローブ核酸は10～100nmである。よってフローブ核酸-標的核酸の長さは100nmのオーダーとなり、基板と板状部材との間の空間距離が50～100 μm と比較して、問題とされない範囲の長さとなる。このように基板上のフローブと板状部材との距離は、基板と板状部材の間の空間の距離とほぼ同じになる。

30

【0030】

さらに、フローブ固定部上の部位に依存する反応のばらつき有無を確認した。具体的には、同一配列を持つDNAフローブをフローブ固定部上の様々な部位に固定させ、試料溶液の回転を行う場合、行わずに静置した場合のそれぞれについてハイブリダイゼーションを行い、蛍光強度値の相対標準偏差（標準偏差／平均）を求めた。その結果、回転を行う場合には、蛍光強度のばらつきすなわち相対標準偏差が約1／13に低下し、回転によりハイブリダイゼーションの均一性が向上されることが示された。

40

【0031】

また、本発明の装置はさらに、ハイブリダイゼーション等の反応に適する設定温度を維持するための温度調節装置20（図2、3）を具備する。温度調節装置は図2、3のように、板状部材2の上部に設置されても良いが、基板1の下部に台状部材に組み込まれて設置

50

されても良い。さらに、板状部材と、台状部材とを内含するスペースを囲むように設置されても良い。さらに、これらの設置方法の組合せでも良い。温度調節装置を用いることにより、ハイブリダイゼーション等の反応のための最適温度を維持しつつ溶液を することができ、反応効率をより高めることが出来る。

【0032】

【実施例2】 本実施例は図1の構成を用いて溶液を させる場合の実施例である。本実施例は、(1)アレイ基板1を設置する台状部材3と、(2)アレイ基板から、試料溶液を保持する空間を介して設けられた板状部材2とを用い、板状部材が前記台状部材に対して相対的に、1方向の往復移動を行うものである。実施例1(図7)における板状部材22が台状部材23に対して相対的に回転することに対し、実施例2では、板状部材2が一定方向に前後に動く。フロープ固定部1'は基板1上の中心部に位置する。

10

【0033】

本実施例は、アレイ基板1上、特にフロープ固定部1'上で溶液を するべく板状部材2がアレイ基板1及び台状部材3に対して相対的に往復移動をするものであり、アレイ基板1、フロープ固定部1'、板状部材2、台状部材3は、図1のA-Cに示すような位置関係を取り得る。

【0034】

板状部材の往復速度は、実施例1と同様に0.1秒～1分/1サイクルであるが、より効果的な範囲は0.9～30秒/1サイクルである

本実施例の台状部材3と板状部材2とフロープ固定部1'の形状は、(1)台状部材は板状部材の動きの範囲に対して十分大きい、(2)板状部材の動く範囲はフロープ固定部に対して十分大きい、ことを条件とする。本発明の実施の例では、板上部材とフロープ固定部は、円形、正方形、もしくは長方形の形をとる。例えば、図1に示す実施例2では、フロープ固定部1'と板状部材2とについて、各々の移動方向の長さを l 、 L とすると、 $L > 2l$ であり、各々の形状はフロープ固定部が長方形であり、板状部材2は正方形である。さらに、具体的な大きさとしては、例えば $l = 24\text{ mm}$ の場合には L は 48 mm 以上であることが望ましい。

20

【0035】

アレイ基板と板状部材2との間の空間への試料溶液の注入法、反応後の試料溶液の吸引法、板状部材の材料や表面修飾や形状、反応後の結果の検出方法、温度調節手段等については、実施例1と同様であるため、ここでは省略する。

30

【0036】

本実施例における試料溶液を往復 した場合と、往復 せずに静置した場合との各々の、ハイブリダイゼーション反応速度については、実施例1と同様、10分程度の反応時間で十分な蛍光強度が得られたのに対し、静置した場合は、180分の反応時間でも回転 を行う場合の半分程度の蛍光強度に留まった。すなわち、往復 によっても、極めて短時間でハイブリダイゼーション反応が行われることが示された。

【0037】

また、本実施例における基板と板状部材との間の空間距離と反応効率の関係についても、実施例1と同様、空間の距離が小さくなるにつれて、すなわち、基板と板状部材が近づくにつれて、反応効率が指数関数的に大きくなることが確認され、より高い反応効率を得られる空間距離は $50 \sim 100\text{ }\mu\text{m}$ であった。

40

【0038】

さらに、本実施例における試料溶液の往復 をした場合と、往復 せずに静置した場合とについて、フロープ固定部上の部位に依存する反応のばらつき有無を実施例1と同様に確認した。その結果、往復 を行う場合には、蛍光強度値のばらつきすなわち相対標準偏差が実施例1と同様に、約 $1/11$ に低下し、往復 によってもハイブリダイゼーションの均一性が向上されることが示された。

【0039】

以上より、本実施例2によっても、本実施例1と同様な効果が得られることが確認された

50

【0040】

【実施例3】 本実施例は図14の構成を用いて溶液を攪拌させる場合の実施例である。本実施例は、(1)フレキシブルアレイ基板40と、(2)フレキシブルアレイ基板を、フロー固定部を有する表面の裏面で内壁41bに接して設置させ、中心軸41aを軸に回転し内壁41bに試料溶液6を広げて保持する設置部材41を用い、設置部材の回転により生じる遠心力によって試料溶液を攪拌するものである。実施例1、2における板状部材が台状部材及び台状部材上に設置されたアレイ基板に対して相対的に動くことに対し、実施例3では、設置部材が回転する。

【0041】

設置部材41はフレキシブルアレイ基板40を内部に保持し、試料溶液6を内部に注入される。試料溶液6の注入後に、カバー41dが設置部材41の上部に設置される(図14)。

【0042】

図15に、設置部材41が回転する際の設置部材41の部分的断面図及びフレキシブルアレイ基板について示す。設置部材41が回転する際には、フレキシブルアレイ基板40はフロー固定部42を有する面と異なる面で内壁41bに接し、内壁41bに押し付けられるよう、力を受ける。設置部材41の内側から見たフレキシブルアレイ基板40を、フレキシブルアレイ基板45として図15中に示す。設置部材41の底部41cに設置された試料溶液43は、内壁41bへ広げられ、フレキシブルアレイ基板40の表面を覆う。

【0043】

設置部材の高速回転は、試料溶液のフレキシブルアレイ基板40に対する相対移動ベクトルを大きくし、その結果、反応の高効率化につながる。しかし、速度が高すぎるとフロー固定部に損傷を与えることになる。そこで、回転速度は100~1000rpmとし、さらに望ましくは200~400rpmとした。

【0044】

従来の回転式装置では、水平軸に沿って回転し、常にメンブレンが溶液に浸されるとは限らない。しかし、本実施例によれば、設置部材が回転することにより、試料溶液は内壁41bに広げられ回転中は内壁上に常に存在するため、内壁上に押し付けられたフレキシブルアレイ基板の表面は常に試料溶液で覆われることとなる。

【0045】

本実施例におけるフレキシブルアレイ基板とフロー固定部は、フレキシブルアレイ基板が設置部材の内壁に位置するよう十分小さいという条件の下、様々な形態をとりうる。フロー固定部は円形、長方形、六角形、もしくは対称的な形態を持つ。例としては、フロー固定部は正方形であり、フレキシブルアレイ基板は長方形である。設置部材の形態については、円筒型や円錐型をとる。

【0046】

アレイ基板と板状部材2との間の空間への試料溶液の注入法、反応後の試料溶液の吸引法、板状部材の材料や表面修飾や形状、反応後の結果の検出方法、温度調節手段等については、実施例1と同様であるため、ここでは省略する。

【0047】

本実施例における試料溶液を攪拌した場合と、攪拌せずに静置した場合との各々の、ハイブリダイゼーション反応速度については、30分程度の反応時間で十分な蛍光強度が得られたのに対し、静置した場合は、180分の反応時間でも回転を行わずの場合の半分程度の蛍光強度に留まった。すなわち、遠心力を用いた攪拌によっても、極めて短時間でハイブリダイゼーション反応が行われることが示された。

【0048】

さらに、本実施例における試料溶液の攪拌をした場合と、攪拌せずに静置した場合について、フロー固定部上の部位に依存する反応のはらつき有無を実施例1と同様に確認した。その結果、攪拌を行う場合には、蛍光強度のはらつきすなわち蛍光強度値の相対標準

10

20

30

40

50

偏差が、約 1 / 6 に低下し、遠心力を用いた によってもハイブリダイゼーションの均一性が向上されることが示された。

【 0 0 4 9 】

以上より、本実施例 3 によっても、本実施例 1 と同様な効果が得られることが確認された。

【 0 0 5 0 】

【 配 列 表 】

SEQUENCE LISTING

<p><110> HITACHI, LTD.</p>		10
<p><120> Solution Mixing Method and Apparatus</p>		
<p><130> H201102</p>		
<p><160> 2</p>		
<p><210> 1</p>		20
<p><211> 18</p>		
<p><212> DNA</p>		
<p><213> Artificial Sequence</p>		
<p><220></p>		
<p><223> Inventor: Kazunori, Okano; Kunio, Harada; Yoshinobu, Kohara; Hideyuki, Noda</p>		30
<p><220></p>		
<p><223> DNA probe.</p>		
<p><400> 1</p>		
<p>tgacggaggt tgtgaggc</p>	18	40
<p><210> 2</p>		
<p><211> 18</p>		
<p><212> DNA</p>		
<p><213> Artificial Sequence</p>		

<220>

<223> DNA probe.

<400> 2

gccctcacaac ctccgtca

18

【図面の簡単な説明】

10

【図 1】本発明実施例 2 の溶液 装置要部の概念図。

【図 2】本発明実施例 2 の溶液 装置要部の部分的断面図。

【図 3】本発明の試料溶液注入器と試料溶液吸引器の 1 例。

【図 4】本発明の試料溶液注入器の 1 例。

【図 5】本発明の実施例 2 における回転 を行う場合と行わない場合の反応速度と相対蛍光強度の関係の例。

【図 6】本発明の実施例 2 における回転 を行う場合と行わない場合の基板と板状部材との間の空間距離と反応効率の関係の例。

【図 7】本発明実施例 1 の溶液 装置要部の概念図。

【図 8】本発明実施例 1 の溶液 装置要部の部分的断面図。

20

【図 9】本発明実施例 1 の板状部材を回転させる手段の概念図。

【図 10】本発明実施例 1 の 2 本の回転シャフトが同期して 90 度ずつ回転したときのフロー固定部と板状部材の位置関係を透過的模式の概念図。

【図 11】本発明実施例 1 の板状部材が回転する際の板状部材の回転方向と、フロー固定部での板状部材の相対移動ベクトルの概念図。

【図 12】本発明実施例 1 のフロー固定部が正方形である場合の例の概念図。

【図 13】本発明実施例 1 のフロー固定部が六角形である場合の例の概念図。

【図 14】本実施例 3 の溶液 装置要部の概念図。

【図 15】本発明実施例 3 の溶液 装置要部の部分的断面図及びアレイ基板の概念図。

【図 16】従来例の溶液 装置の概念図。

30

【符号の説明】

1. アレイ基板

1'. フロー固定部

2. 板状部材

3. 台状部材

4. フロー

5. 標的物質

6. 試料液体

7. 流路

11. 試料注入器

15. 吸引器

40

21. アレイ基板

21'. フロー固定部

22. 板状部材

23. 台状部材

24a、24b. シャフト

25a、b、c、d. フロー固定部 21' 上の点

26. 板状部材の回転方向

27a、27b. 補助小フレート

28. 補助大フレート

50

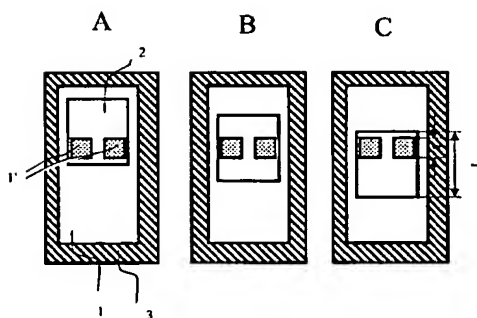
- 29a、29b. 軸
- 30a、30b. 回転シャフトの動く方向、
- 31a、31b. 補助小フレートの動く方向
- 32. 板状部材の動く方向
- 33. 補助小フレートの回転中心と軸の中心とのずれの距離
- 34. 底面
- 35. カバー
- 36. 溶液口
- 37. 空間調節手段
- 38. アレイ設置部
- 39. チャンバー
- 40. フレキシブルアレイ基板
- 41. 設置部材
- 41a. 中心軸
- 41b. 内壁
- 41c. 底部
- 41d. カバー
- 42. フロープ固定部
- 43. 試料溶液
- 44. 空洞
- 45. フレキシブルアレイ基板

10

20

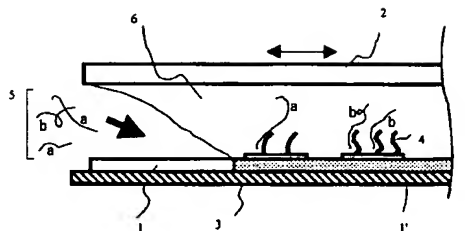
【図1】

図1



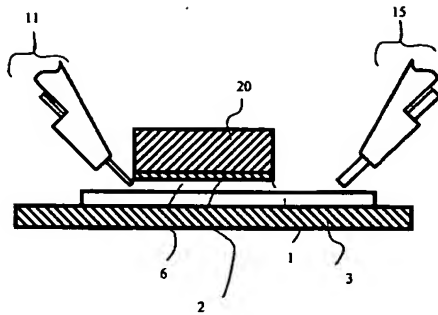
【図2】

図2



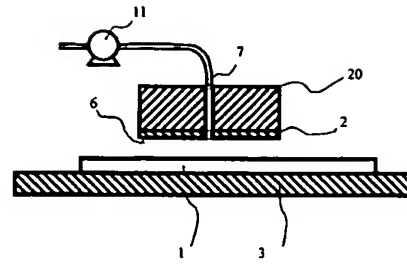
【図 3】

図3



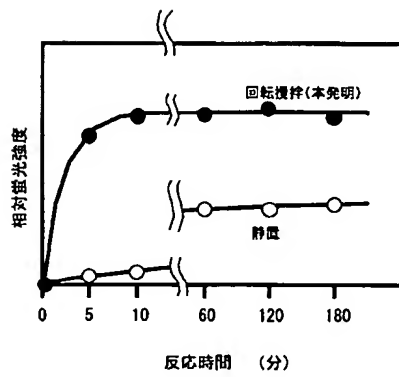
【図 4】

図4



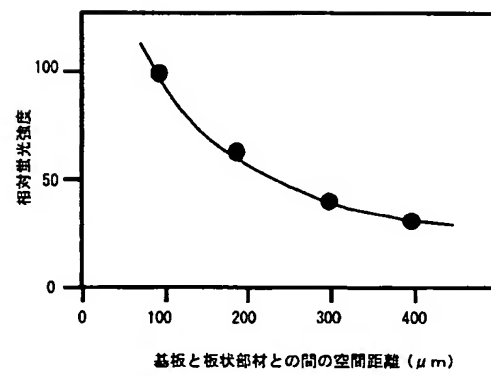
【図 5】

図5

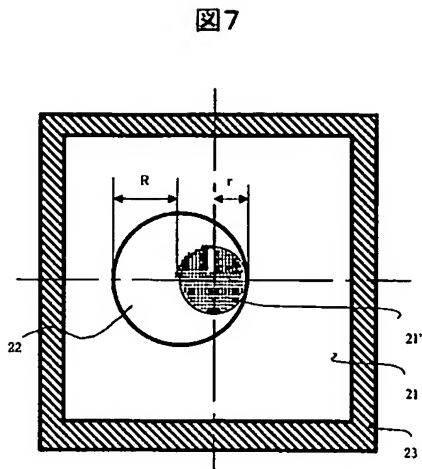


【図 6】

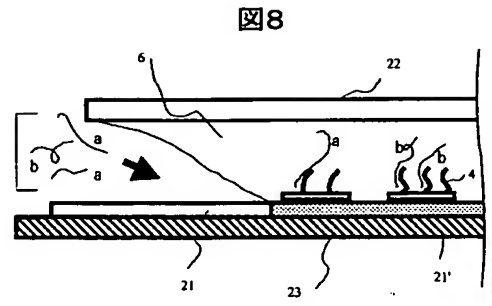
図6



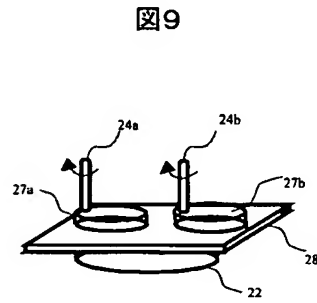
【図7】



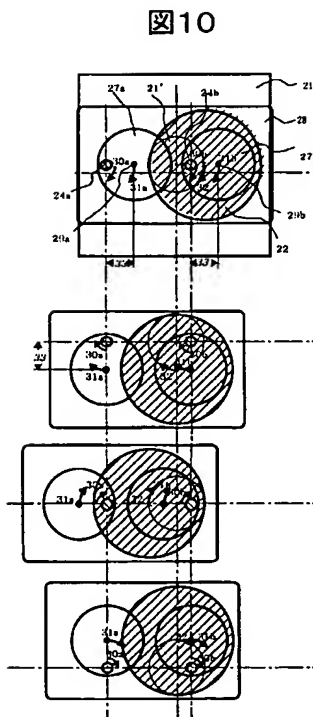
【図8】



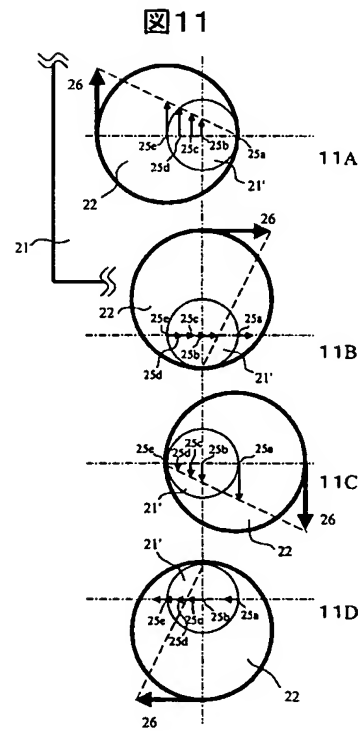
【図9】



【図10】

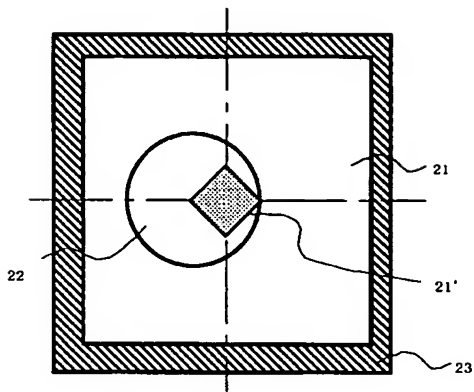


【図11】



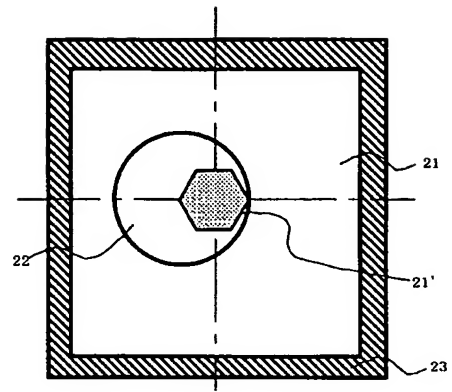
【図12】

図12



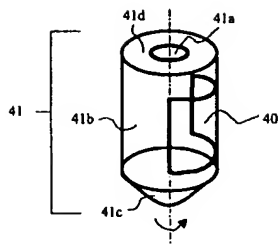
【図13】

図13



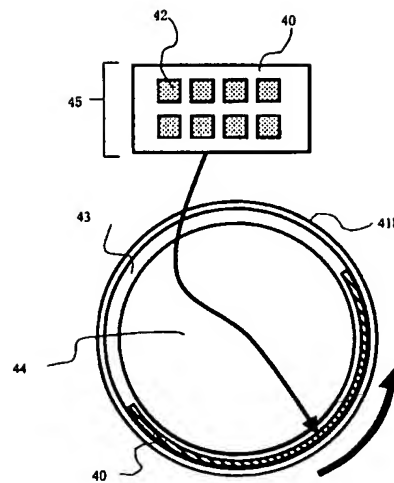
【図14】

図14



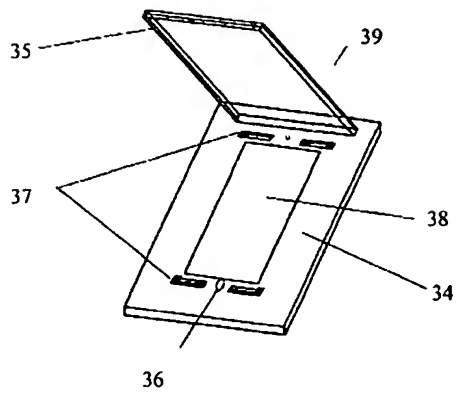
【図15】

図15



【図 16】

図 16



フロントページの続き(51)Int. Cl.⁷

G 0 1 N 37/00

F I

G 0 1 N 37/00 1 0 2

テーマコード (参考)

(72)発明者 野田 英之

東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内

Fターム(参考) 2G052 AB16 AB18 AB20 AB21 AD46 CA03 CA08 CA18 CA29 CA39

EB11 EB12 FB08 FD06 GA11 GA30 HC22 HC36 JA07 JA09

JA11 JA13 JA15

4B029 AA11 AA12 AA23 BB20 CC03 FA12 GA08 GB02

4B063 QA01 QA18 QQ41 QR32 QR42 QR50 QR55 QR82 QS24 QS28

QS34 QS36 QS39